

BEST AVAILABLE COPY

10/539585  
Rec'd PCT/PTO 17 JUN 2005  
PCT/JP 2004/008042

日 本 国 特 許 庁  
JAPAN PATENT OFFICE

11.06.2004

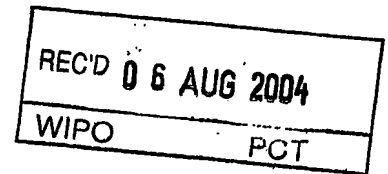
別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日  
Date of Application: 2003年 9月 3日

出 願 番 号  
Application Number: 特願2003-311377  
[ST. 10/C]: [JP 2003-311377]

出 願 人  
Applicant(s): 株式会社シーテック

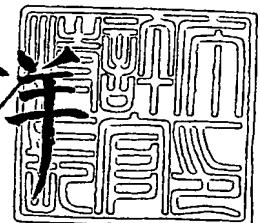


PRIORITY DOCUMENT  
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
COMPLIANCE WITH  
RULE 17.1(a) OR (b)

2004年 7月23日

特許庁長官  
Commissioner,  
Japan Patent Office

小 川



出証番号 出証特2004-3064706

【書類名】 特許願  
【整理番号】 SHT-0001  
【提出日】 平成15年 9月 3日  
【あて先】 特許庁長官 殿  
【国際特許分類】 A23L 02/00  
【発明者】  
    【住所又は居所】 東京都世田谷区下馬 5 丁目 8 番 1 5 号  
    【氏名】 宮本 有正  
【発明者】  
    【住所又は居所】 徳島県徳島市国府町早淵 5 5 番 2 号  
    【氏名】 梶田 昌志  
【特許出願人】  
    【識別番号】 503137735  
    【氏名又は名称】 株式会社シーテック  
【代理人】  
    【識別番号】 100080012  
    【弁理士】  
    【氏名又は名称】 高石 橘馬  
    【電話番号】 03(5228)6355  
【手数料の表示】  
    【予納台帳番号】 009324  
    【納付金額】 21,000円  
【提出物件の目録】  
    【物件名】 特許請求の範囲 1  
    【物件名】 明細書 1  
    【物件名】 図面 1  
    【物件名】 要約書 1

## 【書類名】 特許請求の範囲

## 【請求項 1】

白金ナノコロイドと、ポリアクリル酸塩とを含有する白金ナノコロイド溶液であって、前記白金ナノコロイドが1～5 nmの平均粒径を有するとともに、その90%以上の粒径が0.1～10 nmの範囲に入ることの特徴とする白金ナノコロイド溶液。

## 【請求項 2】

請求項 1 に記載の白金ナノコロイド溶液において、活性酸素種の一つであるスーパーオキシドアニオン濃度を半減するのに要する白金ナノコロイドの濃度 $ID_{50}$ が $200 \mu\text{mol/L}$ 以下であることを特徴とする白金ナノコロイド溶液。

## 【請求項 3】

請求項 1 又は 2 に記載の白金ナノコロイド溶液において、モノマー単位当りに換算した前記ポリアクリル酸塩のモル数と、前記白金のモル数との比率 (R 値) が80～180であることを特徴とする白金ナノコロイド溶液。

## 【請求項 4】

請求項 1～3 のいずれかに記載の白金ナノコロイド溶液において、前記ポリアクリル酸塩がポリアクリル酸ナトリウムであることを特徴とする白金ナノコロイド溶液。

## 【請求項 5】

白金塩と、ポリアクリル酸塩と、アルコールと水とを含有する溶液を還流した後、前記溶液から前記アルコール及び前記水を一部が残留するように蒸発させ、アルコールを加えた後再度前記アルコール及び前記水を蒸発させることを特徴とする白金ナノコロイド溶液の製造方法。

## 【請求項 6】

請求項 5 に記載の白金ナノコロイド溶液の製造方法において、前記アルコールとしてエタノールを使用することを特徴とする方法。

## 【請求項 7】

請求項 5 又は 6 に記載の白金ナノコロイド溶液の製造方法において、前記溶液中の前記 R 値を80～180とすることを特徴とする方法。

## 【請求項 8】

請求項 1～4 のいずれかに記載の白金ナノコロイド溶液を含有することを特徴とする白金ナノコロイド含有飲料。

## 【請求項 9】

請求項 8 に記載の白金ナノコロイド含有飲料において、前記白金ナノコロイドの含有量が $0.001 \sim 100 \mu\text{mol/L}$ であることを特徴とする飲料。

## 【請求項 10】

請求項 8 又は 9 に記載の白金ナノコロイド含有飲料において、陽イオンを含有し、浸透圧が $250 \sim 350 \text{ mOsm} \cdot \text{kg}^{-1}$ であることを特徴とする飲料。

## 【請求項 11】

請求項 10 に記載の白金ナノコロイド含有飲料において、前記陽イオンがナトリウムイオン、カリウムイオン、マグネシウムイオン及びカルシウムイオンから選ばれた少なくとも一種であることを特徴とする飲料。

【書類名】明細書

【発明の名称】白金ナノコロイド溶液及びその製造方法、並びに白金ナノコロイドを含有する飲料

【技術分野】

【0001】

本発明は、白金ナノコロイドとコロイド保護剤を含有し、優れた活性酸素除去能力を示す白金ナノコロイド溶液及びその製造方法、並びにかかる白金ナノコロイドを含有する飲料に関する。

【背景技術】

【0002】

生体内、特にミトコンドリア、ミクロソーム、白血球などにおいては、 $O_2^-$ （スーパーオキシドアニオン）、 $H_2O_2$ （過酸化水素）、 $\cdot OH$ （ヒドロキシラジカル）、及び励起分子種である $^1O_2$ （一重項酸素）といった高い反応性を示す活性酸素種が多く発生する。このような活性酸素種は、生態防御、生化学反応などを含めた生体防御に関与していると言われる。正常な細胞では、これら活性酸素種の生成量は主反応である酸化還元反応の1mol%程度であり、生成した活性酸素種は分解酵素などによって順次代謝されている。

【0003】

人が呼吸により体内に取り入れた酸素の95質量%以上は、通常の代謝過程を経て水になるが、残りの数%はミトコンドリアやミクロソームの電子伝達系において活性酸素種となる。発生した活性酸素種は、多くの場合、スーパーオキシドデスミューターゼ（superoxide dismutase、SOD）、カタラーゼ、グルタチオンペルオキシダーゼなどの抗酸化酵素により除去されている。

【0004】

しかしながら、これらの抗酸化酵素により活性酸素種の全てを体内から除去することはできず、活性酸素種の一部はタンパク質、脂質、核酸等を酸化してしまう。これら酸化された物質のうち、一部は生体防衛機構により修復されるものの、酸化損傷された状態のままになってしまうものもある。この酸化損傷された物質が体内に蓄積することが、疾病や老化に繋がると思われる。

【0005】

スーパーオキシドデスミューターゼ等の抗酸化酵素の発現量は、加齢とともに減少すると言われている。老化による活性酸素種代謝能の低下や病気による活性酸素種の過剰生成によって代謝が間に合わず蓄積してしまうと、非特異的に脂質等の細胞成分を酸化し、その障害から細胞死を導くこともある。活性酸素種の蓄積は老化、生活習慣病、アルツハイマーなど多くの病気の要因となっている。

【0006】

一方、激しい運動や労働をした時には、多量の酸素を体内に取り入れるために活性酸素種が過剰に発生する上、発汗により水分やミネラルを失って疲労するため、抗酸化酵素の活性が低下し、活性酸素種が体内に多量に蓄積してしまう。運動や労働をした時に失われた水分やミネラルは、これらを含有するスポーツドリンク等を摂取することによって補給することができる。これらを補給すると、疲労回復の効果をすることができる。しかしながら、従来のスポーツドリンクは活性酸素種の除去に着目したものではないので、摂取しても体内の活性酸素種を削減する効果は、ほとんど得られない。このため、運動中にも手軽に摂取でき、体内で活性酸素種を効率よく除去できる飲料が望まれている。

【0007】

ビタミンC、ビタミンE等のビタミン類は抗酸化作用を示すことが知られている。これらのビタミンを含有する飲料は市販されており、手軽に飲むことができる。しかしビタミン類の消化管からの吸収量には限界があり、一定量以上は腎より排泄されてしまうので、ビタミン含有飲料を多量に摂取しても一度に大量のビタミン類を体内に取り込んで体内で高濃度に維持することは出来ない。またビタミンは活性酸素種により自らが酸化されるため、一度酸化されたビタミンは抗酸化作用を失う。この酸化されたビタミンが酸化剤として

生体内のタンパク質、脂質、核酸等を酸化してしまうケースもある。このように、ビタミン類の体内濃度が高過ぎると、ビタミン類が生体にとって悪いことを行う可能性もあるので、ビタミンは諸刃の剣と言われている。従って、飲料から一度に大量のビタミン類を摂取することで効率的に活性酸素種を除去しようとするのは、正しい方法とはいえない。

#### 【0008】

特開2002-212102号（特許文献1）は、生体内に陰イオンが豊富な場を形成し、消化管内を通過する間に生体の組織内の受容体に負電荷を供給しつつけて受容体の生理活性を維持する電気化学的生理活性微粒子を開示している。特許文献1には、この電気化学的生理活性微粒子が清涼飲料水などに添加できると記載されているが、電気化学的生理活性微粒子の製造方法については、特開2001-79382号（特許文献2）に記載の金属塩還元法等を利用できると記載されている。

#### 【0009】

特許文献2の金属塩還元法は、水に還元剤（エタノール）及び非イオン系界面活性剤（保護コロイド剤）を添加した処理液に、白金等の金属イオン溶液とpH補償剤（炭酸水素ナトリウムなど）を添加し、処理液を加熱攪拌することにより、金属イオンを還元して金属コロイドを生成させるものである。特許文献2によると、この方法により、処理液の温度、金属イオン溶液に対する界面活性剤及び還元剤の添加量等を調整することにより、金属コロイド粒子の凝集が少なく高濃度の金属コロイド溶液を作製することができる。

#### 【0010】

しかしながら特許文献2は非イオン系界面活性剤としてポリソルベート80しか記載していない。ところが、ポリソルベート80を保護コロイド剤として含有する白金コロイド溶液は活性酸素除去能力が十分でないのみならず、ポリソルベート80自体も飲料に添加できる食品添加物として許可されていない。このため、ポリソルベート80を含有する白金コロイド溶液は飲料に添加するものとしては満足ではなく、かつ安全性上にも問題がある。

#### 【0011】

特開平10-68008号（特許文献3）は、ポリソルベート80を添加した塩化白金酸溶液に還元剤としてエタノールを加え、これを昇温しながら攪拌した後、限外ろ過膜を用いた透析処理を行ってポリソルベート80を除去し、白金コロイド溶液を得る方法を開示している。特許文献3によれば、この方法により得られた白金コロイド溶液中にはポリソルベート80が残存せず、また白金コロイド粒子自体は負に荷電しているために沈殿しないとされている。

#### 【0012】

しかしながら、ポリソルベート80は一種の保護コロイド剤であり、白金コロイド粒子と例えば会合、吸着、配位などにより多少結合していると考えられ、限外ろ過膜を用いた透析処理を行ってもポリソルベート80の一部は白金コロイド溶液中に残存する。また本発明者の研究によれば、白金コロイド粒子自体は荷電しておらず、保護コロイド剤なしにコロイド状態を維持することができない。

#### 【0013】

さらに研究の結果、特許文献2の方法により作製した白金コロイド溶液中の白金コロイド粒子は広い粒径分布を有するのみならず、粒径分布は製品ロットごとに大きく異なることが分かった。ところが、大粒径の白金コロイドは消化管から体内に摂取されないで、体内の活性酸素種を除去することができない。さらに、大粒径の白金コロイドの割合が多くなると、白金濃度あたりの白金コロイドの表面積が減少するので、白金コロイド溶液の活性酸素種除去能は必然的に低くなる。また粒径分布が製品ロットごとに大きく異なると、同一白金濃度であっても、活性酸素種除去能に寄与しない大粒径の白金コロイド粒子の割合が変動し（有効な白金コロイド粒子の割合も変動し）、活性酸素種除去能に著しい差が出るという問題がある。このため、特許文献2の方法では安定して高い活性酸素種除去能を示す白金コロイド溶液を得ることができない。

#### 【0014】

一方、金属コロイドの保護コロイド剤として、ポリアクリル酸塩を使用することが知ら

れている。ポリアクリル酸塩の中でもポリアクリル酸ナトリウムは食品添加物として許可されており、安全性に問題がない。しかし、特許文献2の方法に保護コロイド剤としてポリアクリル酸ナトリウムを使用して得た白金ナノコロイド溶液からエタノールを除去すると、べとついた状態になってしまい、水を添加しても白金コロイド溶液にならないことが分かった。

【0015】

【特許文献1】特開2002-212102号公報

【特許文献2】特開2001-79382号公報

【特許文献3】特開平10-68008号公報

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0016】

従って、本発明の目的は、体内の活性酸素種を効率良くかつ安定して除去でき、高い安全性を有する白金ナノコロイド溶液及びその製造方法、並びにかかる白金ナノコロイドを含有する飲料を提供することである。

【課題を解決するための手段】

【0017】

上記目的に鑑み鋭意研究の結果、本発明者らは、(a) 狭い粒径分布を有する白金ナノコロイド粒子と保護コロイド剤としてポリアクリル酸塩を含有する白金ナノコロイド溶液は、優れた活性酸素種除去能を有すること、(b) かかる白金ナノコロイド溶液は、白金塩と、ポリアクリル酸塩と、アルコールと、水とを含有する溶液を還流した後、アルコール及び水を一部が残留する程度に蒸発させた後アルコールを添加し、得られたコロイド溶液から前記アルコール及び前記水を蒸発させる方法により作製できること、及び(c) かかる白金ナノコロイド溶液を各種の飲料に添加すると、白金ナノコロイドの良好な分散状態を維持したまま優れた活性酸素種除去能を有する飲料となることを発見し、本発明に想到した。

【0018】

本発明の白金ナノコロイド溶液は、白金ナノコロイドと、ポリアクリル酸塩とを含有し、前記白金ナノコロイドが1~5 nmの平均粒径を有するとともに、その90%以上の粒径が0.1~10 nmの範囲に入ることの特徴とする。

【0019】

活性酸素種の一つであるスーパーオキシドアニオン濃度を半減するのに要する白金ナノコロイドの濃度 $ID_{50}$ は、 $200 \mu\text{mol/L}$ 以下であるのが好ましい。モノマー単位当たり換算した前記ポリアクリル酸塩のモル数と、前記白金のモル数との比率(R値)は80~180であるのが好ましい。前記ポリアクリル酸塩は、ポリアクリル酸ナトリウムであるのが好ましい。

【0020】

本発明の白金ナノコロイド溶液の製造方法は、白金塩と、ポリアクリル酸塩と、アルコールと水とを含有する溶液を還流した後、前記溶液から前記アルコール及び前記水を一部が残留するように蒸発させ、アルコールを加えた後再度前記アルコール及び前記水を蒸発させることを特徴とする。

【0021】

前記アルコールとしては、エタノールを使用するのが好ましい。前記溶液中の前記R値は80~180とするのが好ましい。

【0022】

本発明の白金ナノコロイド含有飲料は、本発明の白金ナノコロイド溶液を含有することの特徴とする。

【0023】

前記白金ナノコロイドの含有量は $0.001 \sim 100 \mu\text{mol/L}$ であるのが好ましい。

【0024】

白金ナノコロイド含有飲料は陽イオンを含有し、浸透圧が $250\sim 350\text{ mOsm}\cdot\text{kg}^{-1}$ であるのが好ましい。前記陽イオンがナトリウムイオン、カリウムイオン、マグネシウムイオン及びカルシウムイオンから選ばれた少なくとも一種であることを特徴とする飲料。

【発明の効果】

【0025】

本発明の白金ナノコロイド溶液の含有する白金ナノコロイドは $1\sim 5\text{ nm}$ の平均粒径を有し、その90%以上の粒径が $0.1\sim 10\text{ nm}$ の範囲に入る。また本発明の白金ナノコロイド溶液は優れた活性酸素種除去能（抗酸化作用）を示し、白金ナノコロイド溶液の $\text{ID}_{50}$ （活性酸素種の一つであるスーパーオキシドアニオンを半減するのに要する濃度）は、 $200\mu\text{mol/L}$ 以下である。このため、体内に摂取することにより活性酸素種を効率よく除去することができる。

【0026】

本発明の白金ナノコロイド溶液の製造方法により、狭い粒径分布を有する白金ナノコロイド溶液を安定して作製できる。このため大粒径の白金ナノコロイド粒子はほとんど存在せず、しかもその割合がほとんど変動しないので、高い活性酸素種除去能を示す白金ナノコロイド溶液を安定して得ることができる。また本発明の白金ナノコロイド溶液の製造方法により、白金ナノコロイドと、ポリアクリル酸ナトリウムを含有する溶液を作製することができる。白金及びポリアクリル酸ナトリウムは、共に食品添加物として安全性が確認されているものである。このため、これらを含有する白金ナノコロイド溶液は飲料に添加することができる。

【0027】

本発明の白金ナノコロイド含有飲料は、本発明の白金ナノコロイド溶液を含有する。白金ナノコロイドは消化器官で分解されることなく、高い抗酸化作用を有したままで体に吸収される。吸収された白金ナノコロイドは体内の活性酸素種を不活性な形態に変換するが、その分解反応によって消費されず、触媒様の反応を示す。このため、白金ナノコロイドは体内で長時間に渡って活性酸素種除去能を示すので、白金ナノコロイド含有飲料を摂取することにより、体内の活性酸素種を効率よく除去することができる。

【発明を実施するための最良の形態】

【0028】

[1] 白金ナノコロイド溶液

本発明の白金ナノコロイド溶液は、白金ナノコロイドと、ポリアクリル酸塩を含有する。本明細書中、白金ナノコロイド溶液とは白金ナノコロイドの均一分散液を言う。ポリアクリル酸塩は白金に配位し、白金の親溶媒性を向上させるコロイド保護剤となっている。ポリアクリル酸塩としては、ポリアクリル酸ナトリウム、ポリアクリル酸カリウムが好ましく、ポリアクリル酸ナトリウムが特に好ましい。ポリアクリル酸ナトリウムは食品衛生法で許可された食品添加物であるので、ポリアクリル酸ナトリウムを保護コロイドとすると、飲料に添加しても安全な白金ナノコロイド溶液となる。

【0029】

白金ナノコロイド溶液中のR値は $80\sim 180$ であるのが好ましく、 $90\sim 170$ であるのがより好ましく、 $100\sim 150$ であるのが特に好ましい。R値とは、モノマー単位あたりに換算したポリアクリル酸塩のモル数と、白金のモル数との比率を示す。R値が $80\sim 180$ であると、陽イオン等を添加して等張としたイオン溶液中でも、白金ナノコロイドが分散状態を維持することができる。「等張」とは、体液と同じ浸透圧を有する状態を示す。等張液の浸透圧は、具体的には、 $250\sim 350\text{ mOsm}\cdot\text{kg}^{-1}$ 程度である。等張液の具体例としては、生理的食塩水（0.9質量%NaCl水溶液）が挙げられる。白金ナノコロイド溶液を飲料に添加する場合、体内に吸収されやすいように飲料を等張液にするのが好ましい。このため等張液に対する白金ナノコロイドの分散性が低いと、白金ナノコロイドが均一に分散した飲料を作製できないので好ましくない。

【0030】

白金ナノコロイドの平均粒径は $1\sim 5\text{ nm}$ であり、 $1\sim 3\text{ nm}$ であるのが好ましく、 $1.5\sim 2.5$

nmであるのが特に好ましい。また90%以上の白金ナノコロイドの粒径が0.1~10 nmの範囲に入り、1~3 nmの範囲に入るのが好ましい。このように白金ナノコロイドの粒径分布が狭く、かつその平均粒径が1~5 nmの範囲であると、体内に取り込まれて抗酸化作用を示すと考えられる。このような狭い粒径分布を有する白金ナノコロイド溶液は、後述する本発明の白金ナノコロイド溶液の製造方法によって作製することができる。

#### 【0031】

白金ナノコロイドは、高い活性酸素種除去能を示す。活性酸素種を半減するのに要する白金ナノコロイドの濃度ID<sub>50</sub>は200 μmol/L以下であるのが好ましく、180 μmol/L以下であるのがより好ましい。ここでID<sub>50</sub>とは、スーパーオキシドアニオンの濃度を50%減少させる濃度を示す。ID<sub>50</sub>は、例えば種々の濃度の白金ナノコロイド溶液中を調製し、各溶液中でスーパーオキシドアニオンを発生させ、その減少量を測定することにより求めることができる。白金ナノコロイドはスーパーオキシドアニオン以外の活性酸素種（ヒドロキシラジカル、過酸化水素等）も除去できる。

#### 【0032】

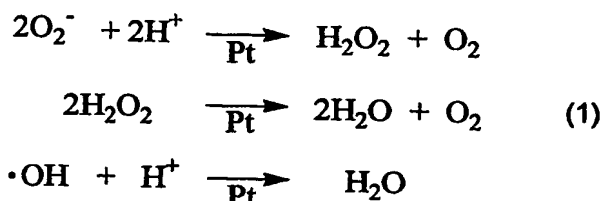
活性酸素種の一つであるスーパーオキシドアニオンを発生させる方法としては、一般的な方法によることができる。例えばヒポキサンチン（HXN）を反応基質とし、キサンチンオキシダーゼ（XOD）を酸化酵素として酵素反応による方法や、還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリジン酸（NADPH）を電子供与体とし、フェナンジメトサルフェート（PMS）を電子転移剤とする化学反応による方法が挙げられる。HXN/XOD系で求めたID<sub>50</sub>と、NADPH/PMS系で求めたID<sub>50</sub>とが異なる場合、少なくとも一方が200 μmol/L以下であるのが好ましく、両方が200 μmol/L以下であるのがより好ましい。

#### 【0033】

白金ナノコロイドによって失活することが可能な活性酸素種としては、スーパーオキシドアニオン（O<sub>2</sub><sup>-</sup>）、過酸化水素（H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>）、ヒドロキシラジカル（・HO）、一重項酸素（<sup>1</sup>O<sub>2</sub>）、過酸化脂質ラジカル、過酸化アルコールラジカル、一酸化窒素（NO）が挙げられる。下記式(1)に示すように、白金ナノコロイドは触媒的に作用して活性酸素種を還元し、水を生成させると考えられている。

#### 【0034】

##### 【化1】



#### 【0035】

### [2] 白金ナノコロイド溶液の製造方法

#### (1) 溶液の調製

白金塩と、ポリアクリル酸塩と、アルコールと、水とを含有する溶液を調製する。白金塩は、アルコールと水からなる溶媒に可溶であるのが好ましい。白金塩としては例えばヘキサクロロ白金酸、ヘキサクロロ白金酸カリウムが挙げられる。これらのうち、ヘキサクロロ白金酸が好ましい。

#### 【0036】

ポリアクリル酸塩としてはナトリウム塩、カリウム塩が挙げられる。これらのうち好ましいものは、ポリアクリル酸ナトリウムである。

#### 【0037】

アルコールとしてはメタノール、エタノール、n-プロピルアルコール、n-ブチルアルコール、n-アミルアルコール、エチレングリコールが好ましく、エタノールが特に好ましい。エタノールを使用することにより、体内に摂取しても安全な白金ナノコロイドを得ることができる。



## 【0038】

白金塩とポリアクリル酸塩とを使用して、白金ナノコロイド溶液を作製する方法を説明する。まず、ポリアクリル酸塩を水に溶解する。溶液中のポリアクリル酸塩の濃度は、0.01~0.5 mol/Lとするのが好ましい。別の容器に白金塩を含む水溶液を調製し、この白金塩水溶液をポリアクリル酸塩溶液に加えて白金塩-ポリアクリル酸塩溶液とする。白金塩-ポリアクリル酸塩溶液中の白金塩の濃度は、2 mmol/L以下とするのが好ましく、1~2 mmol/Lとするのがより好ましい。

## 【0039】

ポリアクリル酸塩-白金塩溶液のR値(R値)は80~180とするのが好ましく、90~170とするのがより好ましく、100~150とするのが特に好ましい。R値が80未満であると、コロイド溶液に陽イオン等を添加して浸透圧を250~350 mOsm $\cdot$ kg<sup>-1</sup>とした場合の白金ナノコロイドの塩析効果に対する分散能が低く、凝集して沈殿し易すぎる。R値が180超であるとポリアクリル酸塩が水とアルコールとの混合溶媒に溶解しにくく、均一な溶液が得られ難い。

## 【0040】

白金塩水溶液を加えた後、白金塩-ポリアクリル酸塩溶液を攪拌する。攪拌時間は30~40分程度とするのが好ましい。攪拌後、白金塩-ポリアクリル酸塩溶液にアルコールを加え、反応溶液とする。反応溶液中のアルコール/白金塩のモル比は10~20とするのが好ましい。

## 【0041】

## (2) 還流

反応溶液を還流する。還流は不活性ガス雰囲気中で行うのが好ましい。還流中にエタノール等のアルコールが白金イオンを還元して白金ナノコロイドを生成させ、アルコールは酸化されてアルデヒドになる。

## 【0042】

反応溶液中の白金塩の量にも依るが、2~3時間還流すると白金イオンがほぼ消失し、白金ナノコロイドが生成する。白金イオンの消失や白金ナノコロイドの生成は、反応溶液の紫外可視吸光スペクトルを測定することにより確認することができる。

## 【0043】

## (3) アルコール溶液の調製

還流後の反応溶液を加熱及び/又は減圧することにより、反応溶液の体積が加熱及び/又は減圧前の体積の0.5~2割程度になるまでアルコール及び水を蒸発させて濃縮液とする。例えば反応溶液をナスフラスコに入れ、ナスフラスコを室温~30℃の湯浴に浸した状態でフラスコ内を水流アスピレータにより減圧にして60~90分保持する。加熱及び/又は減圧前の反応溶液が50 mLの場合、水流アスピレータにより60分程度減圧し、残量5 mL程度とするのが好ましい。

## 【0044】

アルコール及び水の蒸発により得られた濃縮液にアルコール(例えばエタノール)を加えて攪拌し、白金のアルコール溶液とする。加えるアルコールの量は原料の白金塩に対して20~40(アルコール/白金塩のモル比)程度とするのが好ましい。

## 【0045】

## (4) 白金ナノコロイド溶液の調製

白金のアルコール溶液を加熱及び/又は減圧することにより溶媒を蒸発させると、ペースト状の白金ナノコロイドが得られる。この白金ナノコロイドに溶媒を加えて攪拌することにより、均一な白金ナノコロイド溶液を調製できる。溶媒としては、水、水とエタノールの混合物等が挙げられる。ペースト状の白金ナノコロイドにアルコールを加えてアルコール溶液を調製する工程を経ず、反応溶液から直接全ての溶媒を揮発させると、得られる残渣は非常に粘性が高く、べとついた状態になる。このため均一な白金ナノコロイド溶液を得ることができない。これに対し、本発明の白金ナノコロイド溶液の製造方法においては、アルコール溶液を調製して再度アルコールを蒸発する工程を行うので、優れた分散性

を有する白金ナノコロイドを作製することができる。

【0046】

[3] 白金ナノコロイド含有飲料

(1) 白金の濃度

白金ナノコロイド含有飲料中の白金ナノコロイドの濃度は、 $0.001 \sim 100 \mu\text{mol/L}$ とするのが好ましく、 $0.01 \sim 10 \mu\text{mol/L}$ とするのがより好ましい。白金ナノコロイドの濃度が $0.01 \mu\text{mol/L}$ 未満であると、十分な量の白金ナノコロイドを摂取するためには白金ナノコロイド含有飲料を大量に飲まなければならない、効率が悪すぎる。また $100 \mu\text{mol/L}$ 超としても、添加量の割に抗酸化効果が向上せず、コストの面から望ましくない。

【0047】

(2) 白金ナノコロイド以外の成分

(a) 無機電解質及び有機酸塩

白金ナノコロイド含有飲料をスポーツドリンクとする場合、無機電解質、有機酸塩、糖質及びビタミン類が配合されているのが好ましい。無機電解質を添加することにより、運動時の発汗により失われる陽イオン及び陰イオンを補給する飲料とすることができる。無機電解質としては一般的なものを使用することができる。例えば $\text{NaCl}$ 、 $\text{KCl}$ 、 $\text{MgCl}_2$ 、 $\text{MgSO}_4$ 、 $\text{MgCO}_3$ 、 $\text{CaCl}_2$ 、 $\text{CaSO}_4$ 、 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 、 $\text{K}_3\text{PO}_4$ 、 $\text{Ca}_3[\text{PO}_4]_2$ 、 $\text{K}_2\text{HPO}_4$ 、 $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 、 $\text{CaHP}_4$ 等のアルカリ金属又はアルカリ土類金属の各種無機酸の塩類が挙げられる。これらの数種を組合せて配合するのが好ましい。コスト及び吸収効率の観点から、ナトリウム塩、カリウム塩、マグネシウム塩及びカルシウム塩からなる群より選ばれた少なくとも一種を含有するのがより好ましい。塩素イオン、燐酸イオン等の陰イオンの補給を考慮して、適当な無機酸を配合するのが好ましい。

【0048】

陽イオンは、有機酸塩の形態でも添加することができる。有機酸塩としては、例えばクエン酸、乳酸、L-グルタミン酸、コハク酸、アスパラギン酸、アルギン酸、リンゴ酸、グルコン酸の塩が挙げられる。具体的にはクエン酸ナトリウム、クエン酸カルシウム、乳酸ナトリウム、乳酸カルシウム、コハク酸ナトリウム、コハク酸二ナトリウム、L-グルタミン酸ナトリウム、アスパラギン酸ナトリウム、アスパラギン酸カルシウム、アルギン酸ナトリウム、リンゴ酸ナトリウム、グルコン酸カルシウム等を挙げるることができる。

【0049】

無機電解質及び／又は有機酸塩は、陽イオン及び陰イオンを補給するのに必要な量を配合すれば良く、飲料の浸透圧を所望の範囲にするように配合するのが好ましい。配合量は白金ナノコロイド含有飲料の配合に従って広い範囲にわたり得るが、好ましい配合量は白金ナノコロイド含有飲料1000 mL中に陽イオンが $10 \sim 40 \text{ mEq}$ 程度、より好ましくは $20 \sim 60 \text{ mEq}$ 程度である。無機陰イオンは $10 \sim 25 \text{ mEq}$ 程度配合するのが好ましい。

【0050】

有機酸成分は有機酸塩類の形態で添加しても良いし、遊離酸の形態で添加しても良い。遊離酸としては、前述の有機酸塩と同じ酸が挙げられる。有機酸の配合量も一般的な飲料と同じで良く、また必要に応じてそれより多く配合しても良いし、少なく配合しても良い。例えば白金ナノコロイド含有飲料1000 mL中に $1.3 \sim 2.5 \text{ g}$ となる割合で配合することができる。

【0051】

(b) 甘味料

白金ナノコロイド含有飲料に配合する甘味料は、糖質、合成又は天然甘味剤のいずれでも良い。糖質としてはグルコース、フラクトース等の単糖類、マルトース、蔗糖等の二糖類、デキストリン、シクロデキストリン等の多糖類、キシリトール、ソルビトール、エリスリトール等の糖アルコールが挙げられる。甘味剤としては、天然甘味剤〔ソーマチン、ステビア抽出物（レバウディオサイドA等）、グリチルリチン等〕、合成甘味剤（サッカリン、アスパルテム等）を使用することができる。糖質の配合量は、白金ナノコロイド含有飲料100 mL中に約 $1 \sim 15 \text{ g}$ 程度とするのが好ましく、 $3 \sim 12 \text{ g}$ 程度とするのがより好ま

しい。甘味剤の配合量は、その甘さによって様々であるが、糖質を配合した場合と同程度の甘さになるように配合するのが好ましい。

#### 【0052】

##### (c) その他の成分

本発明の白金ナノコロイド含有飲料には、果汁やアミノ酸を配合することができる。果汁としては、例えばグレープフルーツ果汁、リンゴ果汁、オレンジ果汁、レモン果汁、パイナップル果汁、バナナ果汁、ナシ果汁、グレープ果汁等が挙げられる。アミノ酸としては、例えばグルタミン酸ナトリウム、グリシン、アラニン、アスパラギン酸ナトリウム等が挙げられる。

#### 【0053】

上記以外にも各種の添加剤を使用することができる。添加剤としては、ビタミン類、ミネラル類、合成香料及び天然香料等の香料、着色料等や風味物質（チーズ、チョコレート等）、ペクチン酸及びその塩類、アルギン酸及びその塩類等、増粘剤、pH調節剤、安定化剤、保存料、グリセリン類、アルコール類、炭酸飲料用発泡性成分等が挙げられる。これらは単独で使用しても良いし、2種以上組み合わせ使用しても良い。これら添加剤の配合割合は、通常白金ナノコロイド含有飲料100重量部に対して0～20重量部程度の範囲から選択されるのが一般的である。

#### 【0054】

ビタミン類としては、水溶性及び脂溶性を問わず、各種のものを使用できる。例えばパルミチン酸レチノール、ビスベンチアミン、リボフラビン、塩酸ピリドキシン、シアノコバラミン、アスコルビン酸ナトリウム、コレカシフェロール、ニコチン酸アミド、パントテン酸カルシウム、葉酸、ピオチン、重酒石酸コリンが挙げられる。これらの中では、ビタミンE及び／又はビタミンCを添加するのが特に好ましい。ビタミンE及び／又はビタミンCは摂取直後の活性酸素種除去能（抗酸化作用）が大きい。このため、ビタミンE及び／又はビタミンCを飲料に添加することにより、飲料摂取直後の活性酸素種除去能の向上効果を期待できる。

#### 【0055】

ミネラル類としては、塩化ナトリウム、酢酸ナトリウム、硫酸マグネシウム、塩化マグネシウム、塩化カルシウム、リン酸二カリウム、リン酸一ナトリウム、グリセリン酸カルシウム、コハク酸クエン酸鉄ナトリウム、硫酸マンガン、硫酸銅、硫酸亜鉛、ヨウ化ナトリウム、ソルビン酸カリウム、亜鉛、マンガン、銅、ヨウ素、コバルト等を挙げることができる。これらの配合量は必要に応じて適宜決定することができる。

#### 【0056】

##### (3) 白金ナノコロイド含有飲料の性質

白金ナノコロイド含有飲料の浸透圧は250～350 mOsm・kg<sup>-1</sup>であるのが好ましく、280～320 mOsm・kg<sup>-1</sup>であるのがより好ましい。浸透圧が250～350 mOsm・kg<sup>-1</sup>であると、体液の浸透圧に近いので白金ナノコロイドが体内に吸収されやすい。上述の無機電解質や有機酸塩の配合量を調整することにより、飲料の浸透圧を所望の範囲にすることができる。

#### 【0057】

白金ナノコロイド含有飲料の例としては清涼飲料、アルコール飲料（ビール、清酒、ワイン、ウイスキー等）、乳性飲料（厚生省令52号の規定による分類に従う乳飲料、発酵乳、乳酸菌飲料等。ヨーグルト類を含む。）が挙げられる。清涼飲料としてはスポーツドリンク、ニアウオーター、茶（紅茶、緑茶、ウーロン茶等）、JAS規格の定義に基づく分類に従う天然果汁、果汁飲料、果肉飲料、果汁入り飲料、果粒入り飲料等の果実飲料が挙げられる。

#### 【0058】

白金ナノコロイド含有飲料はゲル状飲料でも良い。ゲル状飲料とは、僅かにゲル化した飲料であって、ストロー状の口部を有する可撓性の袋等に充填され、ストロー口から吸い込むものをいう。ゲル状飲料は常温で振とう等の操作を行うことによって容易にゲルが崩壊又は離水し得る。ゲル状飲料は上述の白金ナノコロイド含有飲料の原料を水に溶解させ

、ゲル化剤を加えて加熱溶解し、溶融状態で容器に充填して容器内でゲル化させることにより製造することができる。ゲル化剤としては寒天、カラギーナン、ローカストビーンガム、キサンタンガム、ジェランガム、ペクチン等を使用することができる。

#### 【0059】

白金ナノコロイド含有飲料の好ましい摂取量は、摂取する人の年齢、摂取の目的、白金ナノコロイドの濃度等により異なる。一般的な運動量の成人の場合、白金ナノコロイド濃度 $0.1\mu\text{mol/L}$ 程度の飲料を $1\sim 100\text{ mL/kg/日}$ 程度摂取すると、非常に効果的に体内の活性酸素種を除去することができる。

#### 【実施例】

#### 【0060】

本発明を以下の実施例によってさらに詳細に説明するが、本発明はそれらに限定されるものではない。

#### 【0061】

#### 実施例 1

(1) 白金ナノコロイド粒子〔保護剤：ポリアクリル酸 (PAA) ナトリウム、R値：100〕の作製

100 mlの二口ナスフラスコと、アリーン冷却管と、三方コックとからなる反応システムを組立てた。二口ナスフラスコに、ポリアクリル酸ナトリウム (アルドリッチ社製) 0.31 gとmilli-Q (登録商標) 水 (日本ミリポア株式会社製の純水製造装置milli-Qを使用して精製した水を示す。) 23 mLとを入れて溶解し、スターラーチップで10分間攪拌した。ヘキサクロロ白金酸結晶 ( $\text{H}_2\text{PtCl}_6 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 、和光純薬工業株式会社製) を蒸留水に溶解し、濃度を $1.66 \times 10^{-2}\text{ mol/L}$ とした。二口ナスフラスコ内にこのヘキサクロロ白金酸水溶液を2 mL加え、さらに30分間攪拌した。

#### 【0062】

反応システム内を窒素置換した後、エタノール25 mLを入れ、窒素雰囲気中に保ちながら $100^\circ\text{C}$ で2時間還流した。還流後に反応液の紫外可視吸光スペクトルを測定したところ、白金イオンのピークが消失し、金属固体特有の散乱によるピークが出現していた。

#### 【0063】

ロータリーエバポレータを使用し、ナスフラスコを $30^\circ\text{C}$ の湯浴に浸しながら水流アスピレータによりフラスコ内を減圧にして60分程度保持した。反応液から水とアルコールが蒸発し、フラスコ内の反応混合物が約5 mLになったところで、減圧を開放してエタノール50 mLを加えた。得られたアルコール溶液の入ったフラスコ内を水流アスピレータにより減圧することによりアルコール溶液から再び溶媒を蒸発させると、ペースト状の白金ナノコロイドが得られた。ペースト状の白金ナノコロイドに33 mLのmilli-Q水を加え、ポリアクリル酸ナトリウムを保護剤とした $1\text{ mmol/L}$ の白金ナノコロイド水溶液 (PAA-Pt溶液) を得た。

#### 【0064】

(2) 抗酸化能力の測定

(a) ヒポキサンチン (HXN) / キサンチンオキシダーゼ (XOD) 系

(i)  $\text{O}_2^-$ ラジカル捕捉体量の測定

以下のとおり反応基質としてHXNを使用し、酸化酵素としてXODを使用して、酵素反応により $\text{O}_2^-$ ラジカルを発生させ、PAA-Pt溶液と反応させた。上記の工程(1)で作製した $1\text{ mmol/L}$  PAA-Pt溶液をmilli-Q水で希釈し、25、50、75、100、125、150、200  $\mu\text{mol/L}$ の溶液とし、各々の100  $\mu\text{L}$ に、HXN溶液 [5.5 mmol/L、200 mmol/Lリン酸バッファー (pH 7.5)、HXN：和光純薬工業株式会社製] 50  $\mu\text{L}$ と、5,5-ジメチル-1-ピロリン-N-オキシド (DMPO、株式会社同仁化学研究所製) 15  $\mu\text{L}$ とを溶解した。得られたHXN-PAA-Pt水溶液に、XOD溶液 [0.2 U/mL、200 mmol/Lリン酸バッファー (pH 7.5)、XOD：ロシュ社製] 50  $\mu\text{L}$ を加え、HXN-PAA-Pt-XOD水溶液とした。なおXODの失活を防ぐため、XODを含む溶液は氷浴で冷却しておいた。

#### 【0065】

HXN-PAA-Pt-XOD水溶液中のDMP0-OOH (DMP0の $O_2^-$ ラジカル捕捉体) の量を、XOD溶液の添加から45秒後にESRを用いて測定した。DMP0-OOHは酸化酵素であるXODによって生成した $O_2^-$ ラジカルを捕捉することにより生成したと考えられる。

## 【0066】

ESRの測定条件は、以下のとおりとした。

測定機器: JES-FA100

FREQ = 9423 MHz (変動域:  $\pm 1$  MHz)

FIELD CENTER = 335.5 mT、Width =  $\pm 5.000$  mT

POWER = 4.000000 mW、SWEEP TIME = 1.0 min

Mn (マーカー): 700

## 【0067】

(ii)  $O_2^-$ ラジカル残存率の算定

前述の各Pt濃度の溶液における $O_2^-$ ラジカル捕捉体量を測定した。milli-Q水 (Pt濃度0  $\mu$ mol/L、かつXOD濃度0 U/mL) を使用した以外、工程(i)と同様にして、 $O_2^-$ ラジカル捕捉体量を測定し、この測定値をブランクとして各溶液の $O_2^-$ ラジカル捕捉体量の測定値からそれぞれ差し引いた。

## 【0068】

Pt濃度0  $\mu$ mol/Lのmilli-Q水を使用した以外工程(i)と同様にして $O_2^-$ ラジカル捕捉体量を測定し、この測定値からブランクを差し引いた値をコントロール値とした。 $O_2^-$ ラジカル残存率として、ブランク差し引き後の $O_2^-$ ラジカル捕捉体量の各測定値をそれぞれコントロール値で割った値を求めた。Pt濃度と $O_2^-$ ラジカル残存率とのグラフを図1に●で示す。

## 【0069】

(b) フェナジメトサルフェート (PMS) /還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸 (NADPH) 系

電子供与体としてNADPHを使用し、電子転移剤としてPMSを使用した以外(a)と同様にして各濃度のNADPH-PAA-Pt-PMS水溶液を調製し、水溶液中のDMP0-OOHの量を測定した。NADPHは濃度13.3 mmol/Lの溶液 [200 mmol/Lリン酸バッファー (pH 7.5)、NADPH: 和光純薬工業株式会社製] にしてこのNADPH溶液を50  $\mu$ L使用し、PMSは濃度17.6  $\mu$ mol/Lの溶液 [200 mmol/Lリン酸バッファー (pH 7.5)、PMS: 和光純薬工業株式会社製] にしてこのPMS溶液を50  $\mu$ L使用した。なおPMSは光により分解するので、一連の分析操作は暗所で扱った。

## 【0070】

NADPH水溶液とmilli-Q水を混合した (Pt濃度0  $\mu$ mol/L) 時の水溶液中の $O_2^-$ ラジカル捕捉体量に対する $O_2^-$ ラジカル捕捉体量の割合から、溶液中に残存する $O_2^-$ ラジカルの割合を各Pt濃度毎に算定した。Pt濃度と $O_2^-$ ラジカル残存率とのグラフを図1に○で示す。

## 【0071】

(c) PAA-Pt (PAAを保護剤とする白金ナノコロイド) のID<sub>50</sub>の算定 (R値: 100)

図1のグラフからPAA-PtのID<sub>50</sub>を求めたところ、HXN/XOD系では135.7  $\mu$ mol/Lであり、NADPH/PMS系では、45.6  $\mu$ mol/Lであった。いずれの系においても、 $O_2^-$ ラジカルの捕捉量はPAA-Pt水溶液の添加量に応じて減少していたことから、酵素反応であるHXN/XOD系においても白金ナノコロイドが酵素反応を阻害することにより $O_2^-$ ラジカルの捕捉量が減少したのではなく、 $O_2^-$ ラジカルを不活性種 (最終的には水と酸素) に転化する作用を示したことが分かった。

## 【0072】

(d) 抗酸化作用の経時変化の測定

DMP0を加えない以外工程(b)と同様にして、NADPH-PAA-Pt-PMS水溶液を作製した。PMS溶液の添加直後、その5分後、10分後、15分後、30分後、45分後、60分後のNADPH-PAA-Pt-PMS水溶液にDMP015  $\mu$ Lを加えた。DMP0の添加から45秒後にESRを用いて水溶液中のDMP0-OOHの量を測定し、得られた $O_2^-$ ラジカルの捕捉体量から溶液中に残存する $O_2^-$ ラジカル

の割合を求めた。NADPH-PAA-Pt-PMS水溶液の調製からの経過時間に対する $O_2^-$ ラジカルの残存率のグラフを図2に○で示す。

【0073】

#### 実施例 2

(3) 40～200の種々のR値を有するPAA-Pt水溶液

(a) PAA-Pt水溶液の作製

R値がそれぞれ40、50、75、125、150及び200となるようにポリアクリル酸ナトリウム（和光純薬工業株式会社製）を配合した以外実施例1の工程(1)と同様にして、PAA-Pt水溶液を作製した。このPAA-Pt水溶液を一晩静置し、分散性を観察した。結果を表1に示す。

【0074】

(b) PAA-Pt含有塩化ナトリウム水溶液の作製

R値がそれぞれ40、50、75、125、150及び200となるようにポリアクリル酸ナトリウム（和光純薬工業株式会社製）を配合して作成したPAA-Pt溶液をペースト状にした後、塩化ナトリウム水溶液（0.9質量%）を加えた以外実施例1の工程(1)と同様にして、PAA-Pt含有塩化ナトリウム水溶液を作製した。このPAA-Pt含有塩化ナトリウム水溶液を一晩静置し、分散性を観察した。結果を表1に示す。

【0075】

(4) PAA-Pt（R値：40～200）の平均粒径と $ID_{50}$ の測定

上記工程(3)で得られたPAA-Pt水溶液を使用した以外実施例1の工程(2)と同様にして、各R値のPAA-Pt水溶液のHXN/XOD系における $ID_{50}$ を求めた。また各R値のPAA-Pt水溶液のナノコロイド粒子のTEM写真を撮影し、写真中のPAA-Ptコロイド粒子から200個を任意に選んでPAA-Ptナノコロイド粒子の平均粒径を求めた。 $ID_{50}$ 及び平均粒径を表1に示し、粒径分布を図3に示す。

【0076】

【表1】

R値		40	50	75	100	120	150	200
分散性	水溶液	○ <sup>(2)</sup>	○ <sup>(2)</sup>	○ <sup>(2)</sup>	○ <sup>(2)</sup>	○ <sup>(2)</sup>	○ <sup>(2)</sup>	× <sup>(4)</sup>
	NaCl水溶液	△ <sup>(3)</sup>	△ <sup>(3)</sup>	△ <sup>(3)</sup>	○ <sup>(2)</sup>	○ <sup>(2)</sup>	○ <sup>(2)</sup>	× <sup>(4)</sup>
Ptの平均粒径 ±S.D. <sup>(1)</sup> (nm)		2.35 ±0.78	2.35 ±0.70	2.19 ±0.57	1.93 ±0.48	2.02 ±0.43	1.91 ±0.39	— <sup>(5)</sup>
Ptの $ID_{50}$ ±S.D. <sup>(1)</sup> ( $\mu$ mol/L)		166.9 ±10.4	162.0 ±18.4	152.9 ±14.1	135.7 ±9.0	134.1 ±12.0	125.0 ±9.4	— <sup>(5)</sup>

注 (1)：±S.D.は標準偏差を示す。

(2)：均一なコロイド分散液が得られた。

(3)：コロイド粒子の沈殿を生じた。

(4)：ポリアクリル酸ナトリウムがエタノールに溶解せず、作製不可。

(5)：測定せず。

【0077】

R値を200とすると、ポリアクリル酸ナトリウムがエタノールに溶けず、PAA-Pt水溶液を作製できなかった。R値をそれぞれ40、50及び75としてPAA-Pt塩化ナトリウム水溶液を作製すると、作製当初は水溶液中にコロイド粒子が分散するものの、一晩経過するとナノコロイド粒子は沈殿した。R値をそれぞれ100、125及び150とすると、一晩経過後も0.9質量%NaCl水溶液中でPAA-Ptコロイド粒子が均一に分散していた。

【0078】

#### 比較例 1

ポリアクリル酸ナトリウム溶液を作製し、DMP0-OOH（DMP0の $O_2^-$ ラジカル捕捉体）の量を測定し、溶液中に残存する $O_2^-$ ラジカルの割合を求めた。算定に当たっては、サンプル

としてmilli-Q水 (PAA-Ptを含有しないサンプル) を加えた以外実施例1の工程(2)(a)と同様にしてDMP0-OOH (DMP0の $O_2^-$ ラジカル捕捉体) の量を測定したものをコントロールとした。図5に示すように、比較例1の $O_2^-$ ラジカル量はコントロールとほぼ同じであった。白金ナノコロイドを含有しないポリアクリル酸ナトリウム溶液を添加しても、HXN/XOD系で発生した $O_2^-$ ラジカルは除去されないことが分かった。

【0079】

#### 比較例2

$O_2^-$ ラジカルを発生させた溶液に、ビタミンC (L-アスコルビン酸、和光純薬工業株式会社製、 $100\mu\text{mol/L}$ ) 溶液を加えた以外実施例1の(2)(a)と同様にして、ビタミンCの $ID_{50}$ を求めた。結果を表2に示す。またビタミンC (L-アスコルビン酸、 $100\mu\text{mol/L}$ ) 溶液にNADPH、PMSを加えた以外実施例1の工程(2)(d)と同様にしてNADPH-ビタミンC-PMS水溶液を調製し、溶液中に残存する $O_2^-$ ラジカルの割合を求めた。NADPH-ビタミンC-PMS水溶液の調製からの経過時間に対する $O_2^-$ ラジカルの残存率のグラフを図2に●で示す。

【0080】

#### 比較例3

$O_2^-$ ラジカルを発生させた溶液に、SOD (抗酸化酵素、わかもと製薬株式会社製WK-013) 溶液を加えた以外実施例1の工程(2)(a)と同様にして、SODの $ID_{50}$ を求めた。結果を表2に示す。

【0081】

【表2】

例No.	抗酸化剤	$ID_{50} \pm S.D.*$ ( $\mu\text{mol/L}$ )
比較例2	ビタミンC	$27.5 \pm 2.3$
比較例3	SOD	$(1.1 \pm 0.2) \times 10^{-4}$
実施例1	PAA-Pt	$135.7 \pm 9.0$

注: 標準偏差を示す。

【0082】

表2に示すように、ビタミンCは優れた活性酸素種除去能 (抗酸化作用) を有することが分かった。しかし、図2のグラフから、ビタミンCが活性酸素種除去能を示す時間は実施例1のPAA-Ptと比較して非常に短いことが分かった。これは実施例1のPAA-Ptは触媒的に機能して活性酸素種を失活させるのに対し、ビタミンCは活性酸素種を失活させる反応により消費されてしまうためであると考えられる。

【0083】

表2に示すように、SODも優れた活性酸素種除去能を有することが分かった。しかしSODは酵素であり、経口摂取するとペプシン等の消化酵素の働きにより口腔や胃で直ちに分解されてしまう。このためSODは活性を保ったままで体内に吸収されず、生体内で有効に活性酸素種を除去することができない。

【0084】

#### 比較例4

白金を含む清涼飲料水として市販されている白金玄水 (商品名、協業組合リード製) のPt濃度を測定したところ、 $2.5\text{ mmol/L}$ であった。 $O_2^-$ ラジカルを発生させた溶液に、白金玄水を各濃度に調製したものを加えた以外実施例1の工程(2)(a)と同様にして、白金玄水の $ID_{50}$ を求めたところ、 $251.4 \pm 7.4\mu\text{mol/L}$ であった。白金玄水 (白金濃度 $2.5\text{ mmol/L}$ ) の酸化還元電位を測定した。結果を表3に示す。

【0085】

#### 比較例5

milli-Q水を用いて白金玄水を希釈して白金濃度1 mmol/Lとし、この希釈白金玄水の酸化還元電位を測定した。結果を表3に示す。

【0086】

#### 参考例1

保護剤としてポリビニルピロリドン0.1467 gを使用した以外、実施例1の工程(1)と同様にして、PVPを保護剤とする白金ナノコロイド溶液(PVP-Pt溶液、R値40)を作製した。次に、 $O_2^-$ ラジカルを発生させた溶液にPVP-Pt溶液を加えた以外実施例1の工程(2)(a)及び(c)と同様にして、PVP-PtのID<sub>50</sub>を求めたところ、 $148.7 \pm 23.2 \mu\text{mol/L}$ であった。

【0087】

このPVP-Pt溶液を使用し、DMPDの添加時間をPMS溶液の添加直後、5分後、10分後、15分後、60分後、75分後とした以外実施例1の工程(2)(d)と同様にして、 $O_2^-$ ラジカルの捕捉量を測定し、溶液中に残存する $O_2^-$ ラジカルの量を求めた。NADPH-PVP-Pt-PMS水溶液の調製からの経過時間に対する $O_2^-$ ラジカルの残存率のグラフを図4に示す。

【0088】

図4から、保護剤をPVPとしても白金コロイドは活性酸素種であるスーパーオキシドアニオンに対して触媒的作用を示し、長時間に渡って活性酸素種除去能を発揮することが分かった。

【0089】

一般に活性酸素種除去能(抗酸化作用)は酸化還元電位と相関があり、酸化還元電位が小さいほど活性酸素種除去能が大きいと言われている。このためmilli-Q水を用いて濃度1 mmol/LのPAA-Pt溶液(実施例1)及び濃度1 mmol/LのPVP-Pt溶液(参考例2)を調製し、酸化還元電位を測定した。また比較対象とするために、milli-Q水及び水道水の酸化還元電位を測定した。結果を表3に示す。

【0090】

【表3】

例No.	サンプル (白金濃度)	酸化還元電位 ±標準偏差 (mV)
比較例4	白金玄水 (2.5 mmol/L)	470 ±2.3
比較例5	希釈白金玄水 (1 mmol/L)	496 ±1.8
実施例1	PAA-Pt溶液 (1 mmol/L)	320 ±1.7
参考例1	PVP-Pt溶液 (1 mmol/L)	629 ±0.9
—	milli-Q水	480 ±9.6
—	水道水	662 ±12.1

【0091】

表3より白金玄水(白金濃度2.5 mmol/L)や希釈白金玄水(白金濃度1 mmol/L)の酸化還元電位は、milli-Q水と大差のない値であった。一方、PAA-Pt溶液(白金濃度1 mmol/L)の酸化還元電位は、milli-Q水より小さいことが分かった。しかしPVP-Pt溶液(白金濃度1 mmol/L)の酸化還元電位は、milli-Q水よりかなり大きかった。

【0092】

参考例1のPVP-PtのID<sub>50</sub>は $148.7 \pm 23.2 \mu\text{mol/L}$ であるのに対し、比較例4の白金玄水のID<sub>50</sub>は $251.4 \pm 7.4 \mu\text{mol/L}$ であり、PVP-Ptの方が優れていた。一方、PVP-Ptの酸化還元電位は $629 \pm 0.9 \text{ mV}$ であるのに対し、白金玄水の酸化還元電位は $470 \pm 2.3 \text{ mV}$ であり、白金玄水の方が小さかった。このことから、これらの白金ナノコロイドの活性酸素種除去能(抗酸化作用)は酸化還元電位にあまり影響しないと考えられる。



【0093】

## 参考例 2

白金ナノコロイドの酸化還元電位における保護剤の影響を以下のとおり調べた。PAA-Ptの保護剤であるポリアクリル酸ナトリウム (PAA)、PVP-Ptの保護剤であるポリビニルピロリドン (PVP)、及び白金玄水の保護剤と考えられるポリソルベート80の酸化還元電位を測定した。結果を表4に示す。

【0094】

【表4】

保護剤	酸化還元電位 ±標準偏差 (mV)
PAA	238 ±2.1
PVP	348 ±1.2
ポリソルベート80	280 ±1.3

【0095】

白金ナノコロイドの場合と比較して差は小さいものの、保護剤の酸化還元電位にも白金ナノコロイドの酸化還元電位と同様の傾向があった。すなわち白金ナノコロイドの酸化還元電位の大きさはPAA-Pt<白金玄水<PVP-Ptの順であったのに対し、保護剤の酸化還元電位はPAA<ポリソルベート80<PVPの順であった。このことから、白金ナノコロイドの酸化還元電位は、保護剤に依存していると考えられる。

## 【図面の簡単な説明】

【0096】

【図1】Pt濃度と $O_2^-$ ラジカル残存率との関係を示すグラフである。

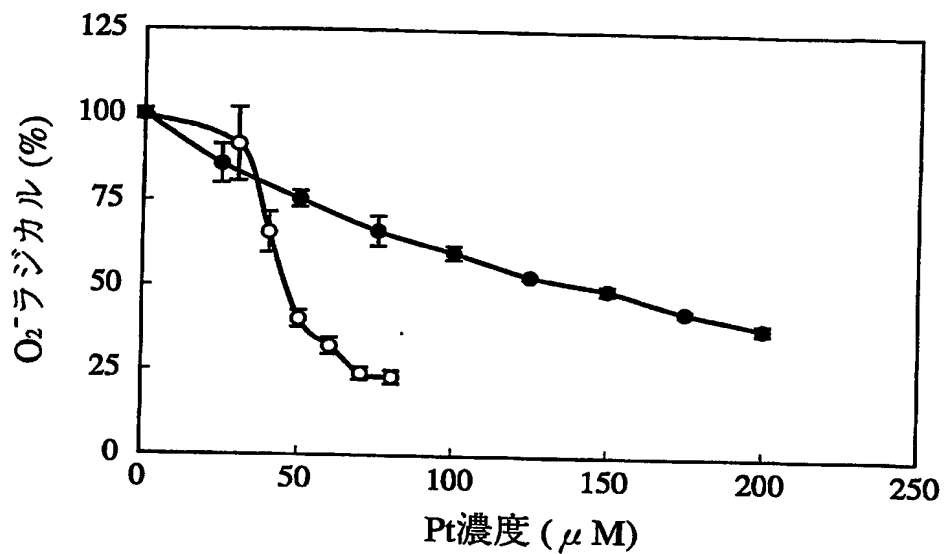
【図2】NADPH-PAA-Pt水溶液へのPMS添加後の経過時間と水溶液中の $O_2^-$ ラジカルの残存率との関係を示すグラフである。

【図3】PAA-Pt粒子の粒径分布を示すグラフである。

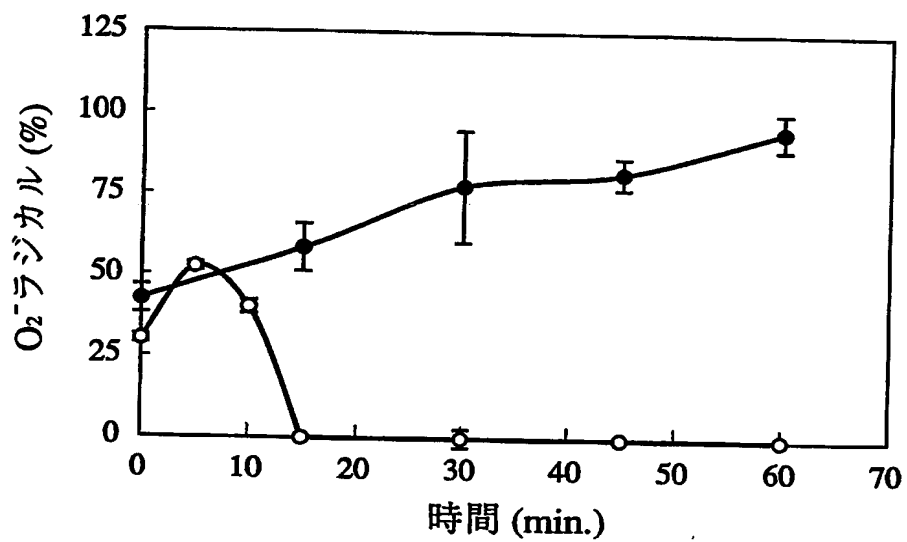
【図4】NADPH-PVP-Pt水溶液へのPMS添加後の経過時間と水溶液中の $O_2^-$ ラジカルの残存率との関係を示すグラフである。

【図5】PAA-Pt溶液と、PAA溶液との $O_2^-$ ラジカル除去能を示すグラフである。

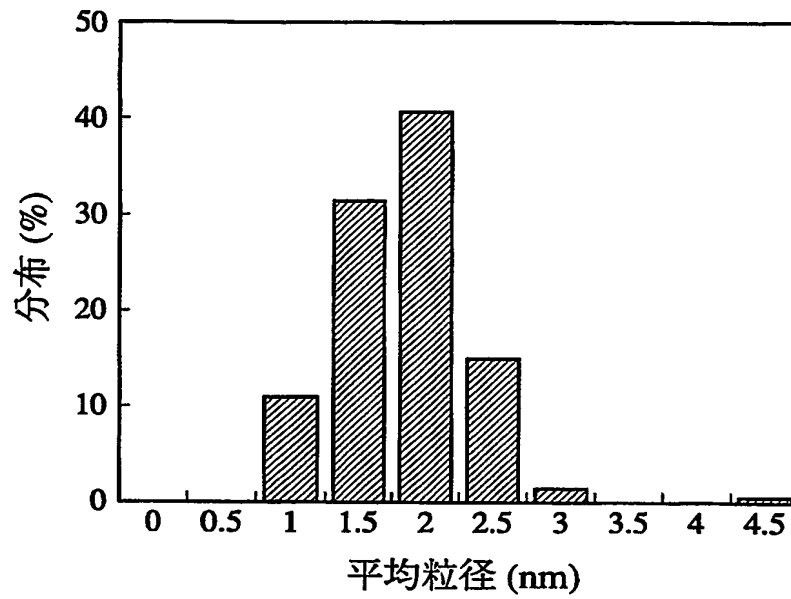
【書類名】 図面  
【図 1】



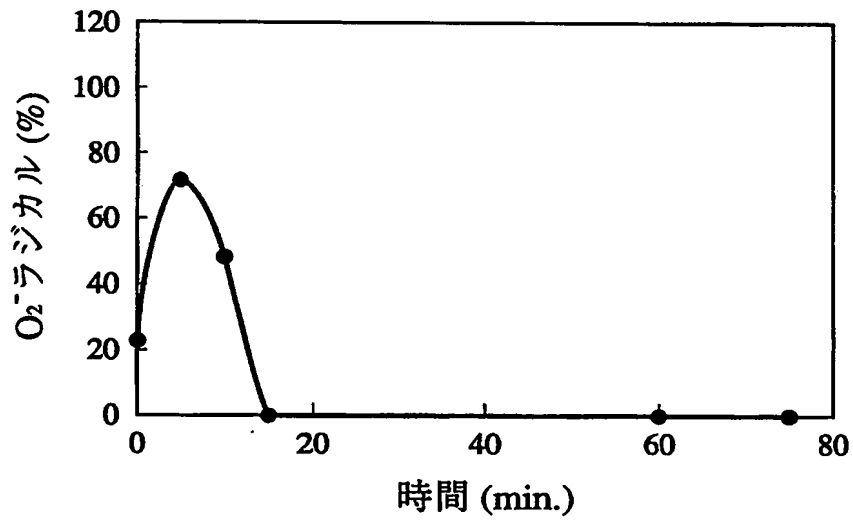
【図 2】



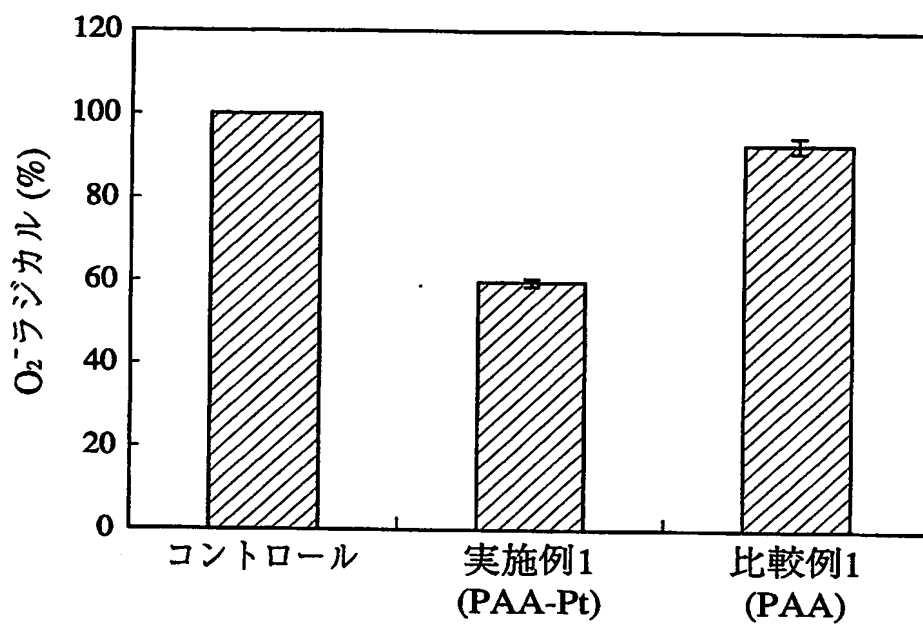
【図 3】



【図 4】



【図 5】



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 体内の活性酸素種を効率良くかつ安定して除去でき、高い安全性を有する白金ナノコロイド溶液及びその製造方法、並びにかかる白金ナノコロイドを含有する飲料を提供する。

【解決手段】 白金ナノコロイドと、ポリアクリル酸塩とを含有する白金ナノコロイド溶液であって、前記白金ナノコロイドが1～5 nmの平均粒径を有するとともに、その90%以上の粒径が0.1～10 nmの範囲に入ることの特徴とする白金ナノコロイド溶液及びその製造方法、並びに白金ナノコロイド溶液を含有する飲料。

【選択図】 図 1

【書類名】 手続補正書  
【整理番号】 SHT-0001  
【提出日】 平成16年 3月 8日  
【あて先】 特許庁長官 殿  
【事件の表示】  
【出願番号】 特願2003-311377  
【補正をする者】  
【識別番号】 503137735  
【氏名又は名称】 株式会社シーテック  
【代理人】  
【識別番号】 100080012  
【弁理士】  
【氏名又は名称】 高石 橘馬  
【電話番号】 03(5228)6355  
【手続補正1】  
【補正対象書類名】 特許願  
【補正対象項目名】 発明者  
【補正方法】 変更  
【補正の内容】  
【発明者】  
【住所又は居所】 東京都世田谷区下馬 5 丁目 8 番 1 5 号  
【氏名】 宮本 有正  
【発明者】  
【住所又は居所】 徳島県徳島市国府町早淵 5 5 番 2 号  
【氏名】 梶田 昌志  
【発明者】  
【住所又は居所】 東京都板橋区西台 4 丁目 3 番 5 号 5 1 1  
【氏名】 戸嶋 直樹  
【その他】 誤記の理由は願書作成の際の誤りです。証明する書面として宣誓書を添付（手続補足書にて提出）致しますので訂正をお願い致します。

## 認定・付加情報

特許出願の番号	特願 2003-311377
受付番号	50400376229
書類名	手続補正書
担当官	鈴木 夏生 6890
作成日	平成16年 4月 9日

## &lt;認定情報・付加情報&gt;

## 【補正をする者】

## 【識別番号】

503304234

## 【住所又は居所】

東京都渋谷区恵比寿南2丁目20番14号 マー  
トルコート恵比寿南201

## 【氏名又は名称】

株式会社シーテック

## 【代理人】

申請人

## 【識別番号】

100080012

## 【住所又は居所】

東京都新宿区神楽坂六丁目67番 神楽坂F Nビ  
ル5階 高石国際特許事務所

## 【氏名又は名称】

高石 橘馬

出願人履歴情報

識別番号

[503137735]

1. 変更年月日

2003年11月17日

[変更理由]

識別番号の二重登録による抹消

[統合先識別番号]

503304234

住所

東京都渋谷区恵比寿南2丁目20番14号 マートルコート恵  
比寿南201

氏名

株式会社シーテック



出願人履歴情報

識別番号

[503304234]

1. 変更年月日

2003年11月17日

[変更理由]

識別番号の二重登録による統合

[統合元識別番号]

503137735

住所

東京都渋谷区恵比寿南2丁目20番14号 マートルコート恵比寿南201

氏名

株式会社シーテック

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

**BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ **BLACK BORDERS**
- ☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☐ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- ☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☒ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER: \_\_\_\_\_**

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**